



등록특허 10-2665156



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년05월17일

(11) 등록번호 10-2665156

(24) 등록일자 2024년05월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01K 67/027 (2024.01)

(52) CPC특허분류

A01K 67/027 (2024.01)

A01K 2207/20 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0090103

(22) 출원일자 2021년07월09일

심사청구일자 2021년07월09일

(65) 공개번호 10-2023-0009563

(43) 공개일자 2023년01월17일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020170077804 A

(뒷면에 계속)

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

유지환

서울특별시 서대문구 연희로32길 48, 연희성원아파트 102동 104호

차지민

경기도 광명시 영당로21번길 16 현대그린파크빌리지 8동 301호

정연욱

서울특별시 동대문구 장안벚꽃로 107, 119-1501(장안동, 장안현대홈타운)

(74) 대리인

파도특허법인유한회사

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 박영관

(54) 발명의 명칭 아토피성 피부염 동물모델 제조 방법

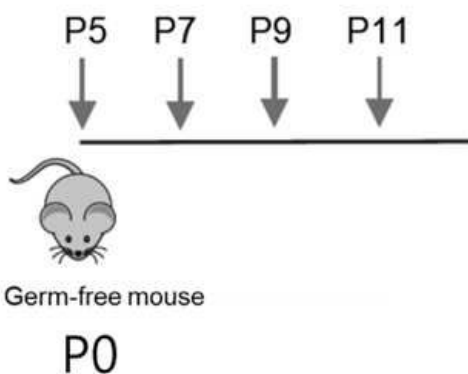
(57) 요약

본 발명은 아토피성 피부염 동물모델에 관한 것으로서, 이와 같은 동물모델을 사용하는 경우 특정 시기에 균주에 노출되어 중증의 아토피성 피부염이 발생되는 경우의 환자의 발생 과정을 알 수 있고, 나아가 이와 같은 환자를 치료하기 위한 치료제를 효과적으로 스크리닝할 수 있다.

대표도 - 도1

Pre-colonization model

TSB, *S.lentus*



(52) CPC특허분류

A01K 2267/0393 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

Methods Mol Biol. vol.1599

pp.91-106(2017.12.31.)*

PLoS One vol.9 no.7 pp.e100499(2014.07.03.)*

J Cent South Univ(Med Sci) vol.42 no.9

pp.1023-1029, 2017

Perit Dial Int. vol.34 no.4 pp.469-70, 2014

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711131424

과제번호 2017M3A9F3041229

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 바이오 의료기술개발사업

연구과제명 유용 프로바이오틱스 발굴 시스템 개발 및 노토바이오틱 마우스기반 유효성 검증

기 여 율 1/1

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2021.01.01 ~ 2022.05.24

명세서

청구범위

청구항 1

아토피성 피부염 동물로부터 분리된 스타필로코커스 속 균주를 목적하는 동물에 도포하는 단계; 및
상기 균주가 도포된 목적하는 동물에 아토피성 피부염 유발 항원을 노출시키는 단계;를 포함하는 아토피성 피부염 동물모델의 제조 방법으로서,
상기 도포하는 단계는 상기 목적하는 동물의 출생 후 14일 이전에 수행하고, 상기 목적하는 동물은 무균 동물(Germ-free animal)인 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서,
상기 스타필로코커스 속 균주는 스타필로코커스 렌투스(*Staphylococcus lentus*, *S. lentus*)인, 제조 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,
상기 도포는 등 및 배의 전체 피부에 도포하는, 제조 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,
상기 항원은 비타민 D 아날로그(vitamin d analogue)인, 제조 방법.

청구항 7

제1항 및 제4항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조된 아토피성 피부염 동물모델.

청구항 8

제7항의 아토피성 피부염 동물모델을 준비하는 단계;
상기 동물모델에 아토피성 피부염 치료, 또는 개선용 후보 물질을 처리하는 단계; 및
상기 동물모델에서 후보 물질에 의해 아토피성 피부염이 치료, 또는 개선된 경우, 상기 후보 물질을 아토피성 피부염 치료 또는 개선 물질로 선별하는 단계;를 포함하는 아토피성 피부염 치료 또는 개선용 후보 물질을 스크리닝하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,
상기 후보 물질에 의해 아토피성 피부염이 치료, 또는 개선되는 것은 동물모델로부터 분리된 시료에서 전염증성 사이토카인의 발현 수준을 확인; 또는 동물모델의 피부병변 정도를 확인하는 과정을 통해 수행되는, 방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 후보 물질은 펩티드, 단백질, 비펩티드성 화합물, 합성 화합물, 발효 생산물, 세포 추출액, 식물 추출액, 동물 조직 추출액 또는 혈장으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 아토피성 피부염 동물모델의 제조 방법 및 그에 의해 제조된 아토피성 피부염 동물모델에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 아토피성 피부염(Atopic dermatitis)은 주로 유아기 혹은 소아기에 시작되는 만성적이고 재발성의 염증성 피부 질환으로 소양증과 피부 건조증, 특징적인 습진을 동반하며, 일부 환자에게는 천식, 고초열, 알러지성 비염 등의 다양한 알러지 질환이 유발되기도 한다.

[0003] 현재까지도 아토피성 피부염의 발생 기전에 대해서는 명확히 규명되지 않고 있으나, 대부분의 환자에서 체내의 체액성 면역반응을 강화하는 제2형 T세포(Th2)에 의하여 분비되는 면역글로블린E(IgE)의 혈중수준이 증가할 뿐 아니라, Th2에 의해 분비되는 IL-4, IL-5의 혈중수준이 증가하는 것으로 보고되어 있어, 아토피성 피부염의 발명에 체액성 면역반응이 전반적으로 관여될 가능성이 높은 것으로 보고되고 있다. 이에 따라 체액성 면역반응을 조절하여 아토피성 피부염을 치료하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

[0004] 보통의 항원은 항원제시세포를 통해 주조직 적합 복합체(MHC) Class II 항원으로 제시되어 T 세포 수용체의 MHC Class II 분자/펩타이드와의 결합부위에 결합하는 반면, 초항원은 항원제시세포의 MHC Class II 항원과 T 세포 수용체(TCR) β 사슬의 variable chain에 직접 결합이 가능하다.

[0005] 포도상구균은 그람 양성균으로서 30종류 이상의 세포 외 단백질을 생산한다. 이들 대부분이 포도상구균의 병원성에 기여하거나 독성력을 증가시키는 것으로 알려져있다. 이들 물질에는 여러 종류의 외독소가 포함되어 있는데, 이들 외독소는 모두 초항원으로 작용할 수 있다. 초항원이란 T 세포를 활성화시키는 세균성 및 바이러스성 단백질로, T 세포를 활성화시키는데 있어 고유한 특성을 가지고 있다.

[0006] 이전까지 아토피성 피부염 환자의 90% 이상의 병변에서 황색포도상구균(*S. aureus*)이 발견되는 반면, 정상인에서는 5% 정도 황색포도상구균의 집락화가 매우 낮은 수준에 해당한다. 포도상구균은 코 속이나 피부의 접히는 부위에 많고, 노란 색의 가피 부위나 심한 진물이 나거나 모낭 염 혹은 농피증이 있으면 포도상구균 감염을 의심할 수 있다. 포도상구균이 아토피성 피부염을 악화시키는 기전으로는 균이 분비하는 독소가 슈퍼 항원(superantigen)으로 작용하여 T 세포와 대식세포를 활성화 시키거나, 포도상구균 독소 자체가 알레르겐으로 작용할 가능성이 있다. 실제 약 1/2의 아토피성 피부염 환자에서 포도상구균 독소에 대한 특이 IgE가 존재하며, 포도상 구균이 피부 표면에서 IgE 매개로 히스타민을 유리하고 이들이 itch-scratch cycle을 자극하여 아토피성 피부염을 악화시킨다고 볼 수 있다.

[0007] 한국질병관리본부의 정의에 의하면, 아토피성 피부염은 피부에 발생하는 만성 알레르기 염증성 질환으로, 알레르기 질환과 염증 질환의 성격을 동시에 가지며 각 질환이 각기 다른 메커니즘으로 작용하기에, 발병 기전을 명확히 규명할 필요가 있다. 현재 정상인이 아닌 아토피성 피부염 환자의 면역 상태를 마우스에서 구현하는 동물 모델은 없는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 일 목적은 아토피성 피부염 동물모델의 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 본 발명에 따른 제조 방법에 의해 제조된 아토피성 피부염 동물모델을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 본 발명에 따른 아토피성 피부염 동물모델을 이용한 아토피성 피부염 치료제 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또

다른 과제들은 아래의 기재로부터 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명의 일 구현 예에서는 아토피성 피부염 동물모델의 제조 방법을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 상기 제조 방법은 아토피성 피부염 동물로부터 분리된 스태필로코커스 속 균주를 목적하는 동물에 도포하는 단계; 및 상기 균주가 도포된 목적하는 동물에 아토피성 피부염 유발 항원을 노출시키는 단계;를 포함한다.
- [0014] 본 발명의 상기 도포하는 단계는 상기 목적하는 동물의 출생 후 14일 이전에 수행하는 것일 수 있다. 본 발명의 목적상 목적하는 동물의 출생 후 14일 이전에 균주를 노출시키는 경우, 그 이후에 노출시키는 경우와 비교하여 중증도가 높은 아토피성 피부염을 매우 효과적으로 재현해낼 수 있다.
- [0015] 본 발명의 상기 스태필로코커스 속 균주는 스태필로코커스 렌투스(*Staphylococcus lentus*, *S. lentus*)일 수 있다.
- [0016] 본 발명의 상기 스태필로코커스 렌투스는 그람 양성, 옥시테이즈 양성, 코아귤라제 음성에 해당하는 스태필로코커스 속 균주에 해당한다.
- [0017] 본 발명의 상기 도포하는 단계는 목적하는 동물의 등 및 배의 전체 피부에 도포하는 것일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 균주를 멸균된 면봉에 충분히 적신 뒤, 상기 면봉을 등 및 배의 전체 피부에 골고루 발라주는 형태로 도포하였다.
- [0018] 본 발명의 상기 아토피성 피부염 유발 항원은 비타민 D 아날로그(vitamin d analogue)일 수 있고, 예를 들면 칼시포트리올(Calcipotriol, MC903)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0019] 본 발명의 상기 동물은 인간을 제외한 포유동물인 것일 수 있고, 예를 들면, 마우스, 햄스터, 랫트, 기니피그, 토끼, 돼지 또는 개인 것일 수 있으며, 예를 들면, 마우스일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 본 발명의 다른 구현 예에서는 아토피성 피부염 동물모델을 제공한다.
- [0022] 본 발명의 상기 동물모델은 본 발명에 따른 상기 제조 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 상기 동물모델의 제조 방법은 앞서 기재된 바와 동일하여, 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해 생략한다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 구현 예에서는 아토피성 피부염 치료 또는 개선용 후보 물질을 스크리닝하는 방법을 제공한다.
- [0026] 본 발명의 상기 스크리닝하는 방법은 본 발명에 따른 아토피성 피부염 동물모델을 준비하는 단계; 상기 동물모델에 아토피성 피부염 치료, 또는 개선용 후보 물질을 처리하는 단계; 및 상기 동물모델에서 후보 물질에 의해 아토피성 피부염이 치료, 또는 개선된 경우, 상기 후보 물질을 아토피성 피부염 치료 또는 개선 물질로 선별하는 단계;를 포함한다.
- [0027] 본 발명의 상기 후보물질에 의해 아토피성 피부염이 치료, 또는 개선되는 것은 동물모델로부터 분리된 시료에서 전염증성사이토카인의 발현 수준을 확인; 또는 동물모델의 피부병변 정도를 확인하는 과정을 통해 수행할 수 있다.
- [0028] 본 발명의 상기 “전염증성사이토카인”이란, 세포 신호전달에 중요하며, 전신 염증을 촉진할 수 있는 사이토카인을 의미하며, 이와 같은 사이토카인의 경우 질병을 악화시킬 수 있다. 본 발명의 목적상 상기 전염증성사이토카인은 TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0029] 본 발명의 상기 전염증성사이토카인의 발현 수준을 확인하는 것은, 통상의 방법 예를 들면, TLSP 단백질 또는 이를 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정함으로써 확인할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 상기 단백질의 발현 수준은 상기 단백질의 존재하는 수준을 측정할 수 있는 제제인 항체 또는 이의 단편, 올리고펩타이드, 리간드, PNA(Peptide nucleic acid) 및 앵타머 등을 이용하여, 웨스턴 블롯 분석(Western blot assay), ELISA(Enzyme linked immunosorbent assay), 방사선면역분석(RIA: Radioimmunoassay), 방사 면역 확산법(Radioimmunodiffusion), 오우크테로니(Ouchterlony) 면역 확산법, 로켓 면역전기영동(Rocket immunoelectrophoresis), 면역조직화학염색법(Immunohistochemical staining), 면역침

전 분석법(Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), 면역형광법(Immunofluorescence), 면역크로마토그래피법(Immunochromatography), FACS(Fluorescenceactivated cell sorter analysis) 및 단백질 칩 분석법(Protein chip technology assay)을 통해 측정할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명의 상기 PNA(Peptide Nucleic Acid)는 인공적으로 합성된, DNA 또는 RNA와 비슷한 중합체를 가리키며, 1991년 덴마크 코펜하겐 대학교의 Nielsen, Egholm, Berg와 Buchardt 교수에 의해 처음으로 소개되었다. DNA는 인산-리보스당 골격을 갖는데 반해, 상기 PNA는 펩타이드 결합에 의해 연결된 반복된 N-(2-아미노에틸)-글리신 골격을 가지며, 이로 인하여 DNA 또는 RNA에 대한 결합력과 안정성이 크게 증가됨으로써 분자 생물학, 진단 분석 및 안티센스 치료법에 적합하게 사용될 수 있다. PNA는 문헌[Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O (December 1991). "Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide". Science 254 (5037): 1497-1500]에 상세하게 개시되어 있다.

[0032] 본 발명의 상기 진단용 조성물은 상기 mRNA 존재하는 수준을 측정할 수 있는 제제를 이용하여, RT-PCR, 정량 실시간 PCR(quantified real time PCR), 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(real time quantitative RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블롯 분석(Northern blot assay), DNA 칩 분석법 등의 방법을 통해 진단하는 데에 사용되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 상기 프라이머는 짧은 자유 3'말단 수산화기(free 3'hydroxyl group)를 가지는 염기 서열로 상보적인 주형 가닥(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로서 기능을 하는 짧은 염기 서열을 의미한다. 상기 프라이머는 적절한 완충 용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재 하에서 DNA 합성이 개시될 수 있다.

[0034] 본 발명의 상기 프로브는 상기 유전자와 특이적으로 결합을 이룰 수 있는 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하고, 이와 같은 프로브는 특정 유전자와 그로부터 전사되는 mRNA의 존재 유무, 유전자로부터 전사되는 mRNA의 발현 수준(발현량)을 확인할 수 있도록 라벨링되어 있을 수 있다. 상기 프로브는 올리고뉴클레오타이드(Oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(Single strand DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(Double strand DNA)프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0035] 본 발명의 상기 유전자의 발현 수준은 상기 단백질을 암호화하는 유전자의 발현 수준을 측정할 수 있는 제제인 프라이머, 안티센스 뉴클레오타이드 및 프로브 등을 이용하여 RT-PCR, 정량 실시간 PCR(quantified real time PCR), 경쟁적 RT-PCR(Competitive RT-PCR), 실시간 RT-PCR(real time quantitative RT-PCR), RNase 보호 분석법(RPA; RNase protection assay), 노던 블롯 분석(Northern blot assay), DNA 칩 분석법을 통해 측정할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0036] 본 발명의 상기 프라이머는 짧은 자유 3'말단 수산화기(free 3'hydroxyl group)를 가지는 염기 서열로 상보적인 주형 가닥(template)와 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로서 기능을 하는 짧은 염기 서열을 의미한다. 상기 프라이머는 적절한 완충 용액 및 온도에서 중합반응(즉, DNA 폴리머레이즈 또는 역전사효소)을 위한 시약 및 상이한 4가지 뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재 하에서 DNA 합성이 개시될 수 있다.

[0037] 본 발명의 상기 프로브는 상기 mRNA와 특이적으로 결합을 이룰 수 있는 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미하고, 이와 같은 프로브는 특정 mRNA의 존재 유무, 발현되는 수준(발현량)을 확인할 수 있도록 라벨링되어 있을 수 있다. 상기 프로브는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 프로브, 단쇄 DNA(single strand DNA) 프로브, 이중쇄 DNA(double strand DNA)프로브, RNA 프로브 등의 형태로 제작될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0038] 본 발명의 상기 단백질을 또는 유전자를 측정할 수 있는 제제는 공지된 전염증성사이토카인의 아미노산 또는 염기 서열을 이용하여 통상의 기술자에 의해 쉽게 제작될 수 있다.

[0039] 본 발명의 상기 후보 물질은 펩티드, 단백질, 비펩티드성 화합물, 합성 화합물, 발효 생산물, 세포 추출액, 식물 추출액, 동물 조직 추출액 또는 혈장으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0040] 본 발명의 상기 후보 물질을 처리하는 단계는 예를 들면, 경구투여, 정맥주사, 스와빙(swabbing), 피하투여, 피내투여 또는 복강투여 등을 통해 수행될 수 있고, 분리한 세포에 처리할 경우에는 세포 배양액에 해당 후보 물

질을 첨가함으로써 수행할 수 있다. 후보 물질의 투여량은 투여 방법, 후보 물질의 성질 등에 맞추어 통상의 기술자가 용인할 수 있는 수준에서 선택할 수 있다.

발명의 효과

[0041] 본 발명은 아토피성 피부염 동물모델에 관한 것으로서, 이와 같은 동물모델을 사용하는 경우 특정 시기에 균주에 노출되어 중증의 아토피성 피부염이 발생하는 경우의 환자의 발생 과정을 알 수 있고, 나아가 이와 같은 환자를 치료하기 위한 치료제를 효과적으로 스크리닝할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 무균 동물의 출생 후 14일 이전에 스태필로코커스 속 균주인 스태필로코커스 렌투스(*Staphylococcus lentus*, *S. lentus*)를 출생일로부터 5일(P5), 7일(P7), 9일(P9) 및 11일(P11)에 무균 동물에 도포하기 위한 타임프레임을 나타낸 것이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 무균 동물의 출생 후 4주 후에 스태필로코커스 렌투스(*Staphylococcus lentus*, *S. lentus*)를 4주 후부터 5일(P5), 7일(P7), 9일(P9) 및 11일(P11)에 무균 동물에 도포하기 위한 타임프레임을 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 대조군(GF, SPF, Post-col) 및 아토피성 피부염 동물모델(Pre-col)에서 측정된 귀 두께를 그래프로 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 대조군(GF, SPF, Post-col) 및 아토피성 피부염 동물모델(Pre-col)의 귀에서 TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)가 존재하는 수준을 실시간 중합효소 연쇄반응을 통해 측정된 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0045] 실시예

[0047] [제조예 1] 아토피성 피부염 동물모델 제조 방법

[0048] 실험을 진행하기 위하여, 마우스의 피부에서 스태필로코커스 렌투스 *Staphylococcus lentus*, *S. lentus*)를 동정하였다. 그런 다음, 동정된 스태필로코커스 렌투스를 TSB(Tryptic soy broth)에 넣고 37 °C에서 18시간 동안 배양하였다.

[0049] 출생일로부터 14일 이전에 스태필로코커스 렌투스를 노출시키기 위하여, 전신에 미생물이 없는 마우스(Germ-free mouse)를 출생일로부터 5일(P5), 7일(P7), 9일(P9) 및 11일(P11)에 약 10×10^9 CFU/ml의 양에 해당하는 스태필로코커스 렌투스를 등 및 배의 전체 피부에 멸균된 면봉을 이용하여 도포하였다. 또한 대조군으로, 전신에 미생물이 없는 마우스가 출생된지 4주 후, 5일, 7일, 9일 및 11일에 약 10×10^9 CFU/ml의 양에 해당하는 스태필로코커스 렌투스를 등 및 배의 전체 피부에 멸균된 면봉을 이용하여 도포하였다. 그런 다음, 상기 마우스가 모두 8주령의 성체가 될 때까지 마우스를 사육하였다.

[0050] 한편, 어릴 때부터 모든 공생세균이 존재하는 마우스(Specific pathogen free mouse; SPF)를 양성 대조군으로 하였으며, 어릴 때부터 모든 공생세균이 존재하지 않는 마우스(Germ-free; GF)를 음성 대조군으로 사용하였다.

[0051] 상기 마우스들에 비타민 D 아날로그인 MC903(calcipotriol)을 이용하여 아토피성 피부염 동물모델을 제작하였다. 구체적으로, 마우스의 왼쪽 귀에는 MC903의 비히클(Vehicle)에 해당하는 20 μ l의 에탄올을 매일 발라주었으며, 오른쪽 귀에는 2 nmol(20 μ l)의 MC903을 매일 발라주었다.

[0053] [실험예 1] 귀 두께 측정을 통한 아토피성 피부염 증상 확인

[0054] 상기 제조예 1에서 제조된 동물모델들에서 매일 귀 두께를 측정하여, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0055] 도 1에서 보는 바와 같이, 출생된지 14일 이전에 스태필로코커스 렌투스를 노출시킨 마우스 동물모델(Pre-col)의 경우에서, 출생된지 14일 이후에 상기 균주를 노출시킨 마우스 동물모델(Post-col)과 비교하여 귀의 두

께가 현저하게 두꺼워지는 것을 확인하였다.

[0056] 상기 결과를 통해, 스타필로코쿠스 렌투스 출생된지 14일 이전에 노출시킨 경우에는 그 후에 노출시킨 경우와 비교하여 아토피성 피부염 병증이 심해져, 아토피성 피부염 동물모델을 효과적으로 제조할 수 있음을 알 수 있다.

[0058] **[실험예 2] 아토피성 피부염관련 사이토카인 발현 수준 측정**

[0059] 상기 제조예 1에서 제조한 마우스 모델의 귀에 MC903 또는 에탄올을 5번 발라주고, 다음날인 6일째에 마우스를 희생시켜 귀에서 사이토카인인 TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)가 존재하는 수준을 통상의 방법에 따라 하기 표 1에 기재된 프라이머를 이용하여 실시간 중합효소 연쇄반응(Real-time polymerase chain reaction)을 수행하고, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

표 1

서열번호	유전자	방향	서열
서열번호 1	TSLP	정방향	5'-TCG AGG ACT GTG AGA GCA AG CCAG-3'
서열번호 2		역방향	5'-CTG GAG ATTG CAT GAA GGAA TACCA-3

[0061] 도 4에서 보는 바와 같이, 출생된지 14일 이전에 스타필로코쿠스 렌투스를 노출시킨 마우스 동물모델(Pre-col)의 경우에서, 출생된지 14일 이후에 상기 균주를 노출시킨 마우스 동물모델(Post-col)과 비교하여 TSLP의 발현 수준이 현저하게 증가되어 있는 것을 확인하였다.

[0062] 상기 결과를 통해, 스타필로코쿠스 렌투스가 노출되는 시기가 출생된지 14일 이전인 경우에서 특이적으로 아토피성 피부염의 병증이 심해질 수 있는 것을 알 수 있다.

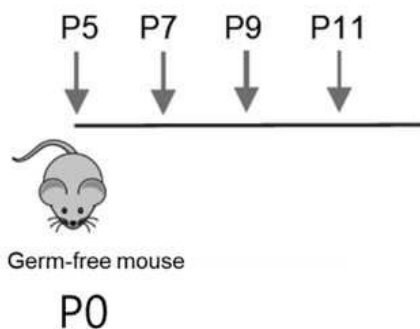
[0064] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

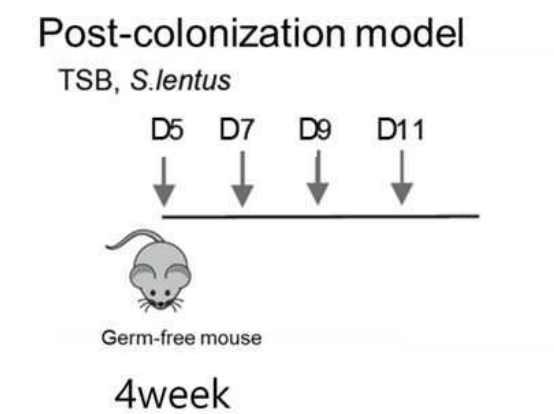
도면1

Pre-colonization model

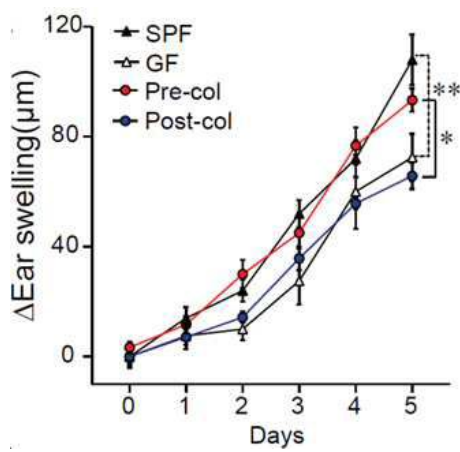
TSB, *S.lentus*



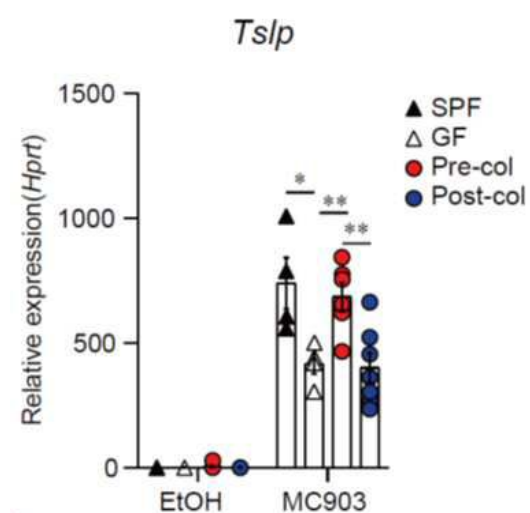
도면2



도면3



도면4



서열 목록

<110> Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University

<120> A method for preparing animal model for atopic dermatitis

<130> PDPB214178
 <160> 2
 <170> KoPatent In 3.0
 <210> 1
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> TSLP Forward primer
 <400> 1
 tcgaggactg tgagagcaag ccag 24
 <210> 2
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> TSLP Reverse primer
 <400>
 > 2
 ctggagattg catgaaggaa tacca 25